

DELPHION



RESEARCH

PRODUCTS

INSIDE DELPHION

My Account

Search: Quick/Number Boolean Advanced Der

The Delphion Integrated View: INPADOC Record

Get Now: ☒ PDF | [File History](#) | [Other choices](#)

Tools: Add to Work File: [Create new Work](#)

View: Jump to: [Top](#)

Go to: [Derwent](#)

[Ema](#)

Title: CN1241447A: DOUBLE-WATER PHASE DISTRIBUTION AND TEMPERATURE-CHANGE SOLVENT COUNTER-EXTRACTION PROCESS TO EXTRACT SCUTELLARIA FLAVONOID

Derwent Title: Double-water phase distribution and temperature-change solvent counter-extraction process to extract scutellaria flavonoid [\[Derwent Record\]](#)

Country: CN China

Kind: A Unexamined APPLIC. open to Public inspection I

Inventor: WEI LI; China
ZIQIANG ZHU; China
SHANJING YAO; China



Assignee: ZHEJIANG UNIV. China
[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)

Published / Filed: 2000-01-19 / 1999-03-17

Application Number: CN1999099104206

IPC Code: Advanced: [B01D 11/02](#);
Core: more...
IPC-7: [B01D 11/02](#);

ECLA Code: None

Priority Number: 1999-03-17 CN1999099104206

Abstract: At normal temperature, the flavonoids in scutellaria root is leached out with the water solution containing ethylene oxide-propane oxide random copolymer (EOPO) and ethanol. Through regulating the composition of EOPO/ammonium sulfate double water phase system, the flavonoids are made to distributed mainly in the upper EOPO phase, which is first concentrated and purified and then separated and re-purified by means of temperature changing counter-extraction process. The present invention has high extraction efficiency and high product quality.

Family:

PDF	Publication	Pub. Date	Filed	Title
<input checked="" type="checkbox"/>	CN1241447A	2000-01-19	1999-03-17	DOUBLE-WATER PHASE DISTRIBUTION TEMPERATURE-CHANGE SOLVENT CO EXTRACTION PROCESS TO EXTRACT SCUTELLARIA FLAVONOID

1 family members shown above

Other Abstract None

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

B01D 11/02

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 99104206.9

[43]公开日 2000年1月19日

[11]公开号 CN 1241447A

[22]申请日 1999.3.17 [21]申请号 99104206.9

[71]申请人 浙江大学

地址 310027 浙江省杭州市玉古路20号

[72]发明人 李伟 朱自强 姚善经

[74]专利代理机构 浙江大学专利代理事务所

代理人 张法高

权利要求书1页 说明书6页 附图页数0页

[54]发明名称 双水相分配和溶剂变温反萃提取黄芩黄酮类物质的方法

[57]摘要

本发明公开了一种双水相分配结合有机溶剂变温反萃提取黄芩黄酮类物质的方法。常温下用含环氧乙烷—环氧丙烷无规共聚物(EOPO)和乙醇的水溶液将黄芩根中的黄酮类物质浸取出来,以EOPO/硫酸铵双水相系统,通过调节成相剂组成,使黄酮类物质主要分配在含EOPO的上相,并得到浓缩和纯化,再利用变温反萃技术,使其得以分离和提纯。本发明提取效率高,产品质量好,既经济又操作简单。

ISSN 1008-4274

专利文献出版社出版

权 利 要 求 书

1.一种双水相分配结合有机溶剂变温反萃提取黄芩黄酮类物质的方法，其特征在于它的步骤如下：

(1) 固液浸取

称取黄芩粉末，分别加入水、环氧乙烷-环氧丙烷无规共聚物、乙醇，配制成 PH 为 6.0~6.8, 含 3~6% 黄芩、10~20% 环氧乙烷-环氧丙烷无规共聚物、10~20% 乙醇的水溶液，常温下浸泡 12~36 小时，过滤后得滤液；

(2) 双水相萃取

取上述滤液，加入 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 或混合磷酸钾和水，配制成含 8~15% 环氧乙烷-环氧丙烷无规共聚物和 10~20% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 双水相系统，充分混匀，在 15~30℃ 下静置分相 2~4 小时。

(3) 醋酸丁酯反萃

取出富含环氧乙烷-环氧丙烷无规共聚物的上相，加水、醋酸丁酯和无机盐 Na_2SO_4 或 KCL，充分混匀，系统有机相和水相之比为 0.5~1.5, Na_2SO_4 的浓度为 0.05~0.2M，在 50~60℃ 下静置分相 1~3 小时，此时，上相富含醋酸丁酯、环氧乙烷-环氧丙烷无规共聚物和黄酮类物质，而下相主要是含 Na_2SO_4 的水溶液，弃去下相。

(4) 醋酸丁酯反萃

取出上相，加入水，充分混匀，系统有机相和水相之比为 0.5~1.5，在 1~5℃ 下静置分相 10~30 小时，将上、下相分开，含大量黄酮类物质的醋酸丁酯相待进一步处理，而下相中的水和环氧乙烷-环氧丙烷无规共聚物可以回收使用。

(5) 浓缩、干燥制得成品

将上述上相进行浓缩，浓缩液置于 60~80℃ 下真空干燥，得到黄芩黄酮类固体。

2. 根据权利要求 1 所述的一种双水相分配结合有机溶剂变温反萃提取黄芩黄酮类物质的方法，其特征在于所指的环氧乙烷-环氧丙烷无规共聚物的分子量在 2000~8000 范围内。

说明书

双水相分配和溶剂变温反萃提取黄芩黄酮类物质的方法

本发明涉及提取方法，尤其涉及双水相分配和溶剂变温反萃提取黄芩黄酮类物质的方法。

双水相系统 (ATPS) 就是当两种聚合物或一种聚合物与一种盐溶于水中而形成溶液时，由于聚合物溶液间或聚合物与无机盐溶液间具有不相容性，致使当聚合物和无机盐的浓度达到一定值以上时，就会分成互不相溶的两相系统，由于其共同溶剂是水，就称此系统为双水相系统。常见的用于生物物质分离的聚合物/聚合物系统有聚乙二醇 (PEG)/葡聚糖，聚合物/无机盐系统有 PEG/磷酸盐，PEG/硫酸铵等。相对于葡聚糖来说，无机盐价格便宜，所以聚合物/无机盐系统在工业应用上具有更为广阔的前景。

ATPS 的应用减少了分离过程的步骤，具有较高产率，低能耗和设备投资少等优点。但它的缺点是化学品的消耗量大。显然，要使它成为一种有竞争力的大规模分离手段，就必须降低化学品的成本或减少使用量。因此，开发新型、廉价的成相剂和研究聚合物回收的方法显得极为重要。事实上，经双水相分配后的物质仍留在上相或下相，往往与系统中的聚合物一起存在。而无论从纯化的角度或是聚合物回收的角度来看，都要求目的产物与聚合物分开。一般来说，脱除聚合物的方法主要有：萃取、超滤、电泳和色谱分离等，但是这些方法既费时，且费用又大。而温度诱导双水相相分配技术，能不借助于其它手段，就可达到将目标产物和成相聚合物分离，是一种价廉、实用的方法。

目前，用以构筑温度诱导双水相系统的聚合物主要是环氧乙烷和环氧丙烷的无规共聚物 (EOPO)。EOPO 具有较低的浊点 (Cloud point)，在水溶液中，当温度超过浊点 (50℃) 时会发生温度诱导相分离，形成新的两相系统，此时上相为水相而下相则富含 EOPO。通常目的产物分配在水相，而富含 EOPO 的相得以回收利用。已有一此报导利用温度诱导效应的 ATPE 技术对酶、甾族化合物和氨基酸等的分离进行了研究。这一新型的 ATPS 已越来越受到人们的关注。

黄芩自古以来就被作为传统医药，黄芩中的化学成分大约有 60~70 多种，一般认为黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 中所含的黄芩甙和黄芩素等黄酮类物质是具有药用价值的主要有效成分。我国多年来对黄芩的利用，主要是将黄芩经简单的处理，以切片形式作中药制剂利用，或将黄芩直接与其它中草药

配伍制成复方制剂。有关提取黄芩中的有效成分（黄芩甙和黄芩素）的报道很少。国内一般采用“酸沉淀法”，其工艺过程为：将黄芩粉末用水煎煮两次，每次1小时，过滤并合并滤液，加酸使溶液 pH 至 1~2，在 80℃ 下保温 24 小时，使黄酮类物质凝聚析出，过滤得沉淀物，用 40% 氢氧化钠溶解，调节 pH 至 7，加 1.5 倍的乙醇搅匀，过滤，再加酸调节 pH 至 1~2，加热到 80℃，使黄酮类物质析出，沉淀物以少量的 50% 乙醇洗涤后，再以 5 倍量乙醇洗涤，干燥即得成品。该工艺的收率一般为 2~4% 左右，黄酮类物质含量为 90%（按中国药典 1990 年版测定）。其它的一些在“酸沉淀法”基础上的改进工作也有报道，但收效甚微。实践证明“酸沉淀法”等工艺提取黄芩中的有效成分，存在以下问题：操作繁琐，提取率较低，杂质多且工艺不稳定。

本发明的目的是提供一种提取率高，产品质量好，既经济又操作简单的双水相分配结合有机溶剂变温反萃提取黄芩黄酮类物质的方法。

为了达到上述目的本发明采取下列措施：

一种双水相分配结合有机溶剂变温反萃提取黄芩黄酮类物质的方法，其特征在于它的步骤如下：

（1）固液浸取

称取黄芩粉末，分别加入水、环氧乙烷-环氧丙烷无规共聚物、乙醇，配制成 PH 为 6.0~6.8，含 3~6% 黄芩、10~20% 环氧乙烷-环氧丙烷无规共聚物、10~20% 乙醇的水溶液，常温下浸泡 12~36 小时，过滤后得滤液；

（2）双水相萃取

取上述滤液，加入 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 或混合磷酸钾和水，配制成含 8~15% 环氧乙烷-环氧丙烷无规共聚物和 10~20% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 双水相系统（约含 8~15% 乙醇），充分混匀，在 15~30 下静置分相 2~4 小时。

（3）醋酸丁酯反萃

取出富含环氧乙烷-环氧丙烷无规共聚物的上相，加水、醋酸丁酯和无机盐 Na_2SO_4 或 KCL，充分混匀，系统有机相和水相之比为 0.5~1.5， Na_2SO_4 的浓度为 0.05~0.2M。在 50~60℃ 下静置分相 1~3 小时，此时，上相富含醋酸丁酯、环氧乙烷-环氧丙烷无规共聚物和黄酮类物质，而下相主要是含 Na_2SO_4 的水溶液，弃去下相。

（4）醋酸丁酯反萃

取出上相（醋酸丁酯相），加入水，充分混匀，系统有机相和水相之比为 0.5~1.5，在 1~5℃ 下静置分相 10~30 小时，将上、下相分开，含大量黄酮类物质

的醋酸丁酯相待进一步处理，而下相（水和环氧乙烷-环氧丙烷无规共聚物）可以回收使用。

（5）浓缩、干燥制得成品

将上述上相进行浓缩，浓缩液置于 60~80℃ 下真空干燥，得到黄芩黄酮类固体。

本发明提取黄酮类物质的方法，具有明显的优点。

①浸取效果好

采用本发明的固液浸取方式，比常规的煎煮方式更好，且在常温下进行，既降低了能耗，又可避免中草药有效成分的破坏。

②分相迅速

在实验中观察到，采用 ATPE 处理，约 30 分钟既可分相，且无乳化层，缩短了整个工艺周期。

③过程集成

双水相萃取既达到了预处理的目的，又浓缩了料液。表现为：大量的杂质（如亲水性物质、细胞碎片等）进入下相，黄酮类物质进入上相，上相体积较原始处理液大为减少，浓缩倍数达到了 4 以上，充分体现了双水相技术适用于生物产品粗分离的特点。

④降低物耗

通过变温反萃处理，不仅使黄酮类得以与 EOPO 完全分离，而且大量的聚合物（EOPO）可直接循环利用。醋酸丁酯在浓缩过程中通过冷却也可回收利用，因此，本工艺大大降低了原材料的消耗。

⑤本发明方法简单，易于掌握，不受环境影响，见效快。

⑥按中国药典规定的方法测定，本方法所得的产品中黄酮类物质的含量比常规的酸沉淀法高出 20~30 个百分点。

下面结合实施作详细说明：

实施例 1

（1）固液浸取

称取得 30g 黄芩粉末，分别加入 412g 水、100g EOPO 4000、100g95%乙醇、及 6.8KH₂PO₄ 和 17.9gNa₂HPO₄·12H₂O(溶液 pH6.0~6.8),常温下浸泡 24 小时，过滤后得滤液 605g。

（2）双水相萃取

取上述滤液，加入 150g (NH₄)₂SO₄ 和 246g 水，充分混匀，在 25℃ 下静置

分相 2~4 小时至分相彻底，黄酮类物质进入上相（EOPO 相）。

(3) 醋酸丁酯（BA）/H₂O（50~60℃）反萃

取出富含 EOPO 的上相 185ml，加入 215ml 水、200ml 醋酸丁酯（BA）和少量的无机盐（Na₂SO₄，浓度为 0.1M）。充分混匀，在 50~60℃下静置分相 1~3 小时，此时，上相富含 BA、EOPO 和黄酮类物质，而下相主要是含 Na₂SO₄ 的水溶液，弃去下相。

(4) 醋酸丁酯（BA）/H₂O（1~5℃）反萃

取出上相（BA 相）292ml，加入水 208ml，充分混匀，在 1~5℃下静置分相 20 小时，将上、下相分开，含大量黄酮类物质的 BA 相待进一步处理，而下相（H₂O+EOPO）得以回收使用。

取出上（BA 相），加入等体积的水，重复该步骤 1~2 次。

(5) 浓缩、干燥制得成品

将上述上相（BA 相）230ml 进行浓缩（回收 BA），浓缩液 50ml 置于 65℃下真空干燥，得成品。

实施例 2

(1) 固液浸取

称取 30g 黄芩粉末，分别加入 625g 水、100gEOPO4000、100g95%乙醇、及 6.8gKH₂PO₄ 和 17.9gNa₂HPO₄·12H₂O(溶液 pH 为 6.0~6.8),常温下浸泡 12 小时,过滤后得滤液 808g。

(2) 双水相萃取

取上述滤液，加入 150g (NH₄)₂SO₄ 和 242g 水，充分混匀，在 15℃下静置分相 2~4 小时至分相彻底，黄酮类物质进入上相（EOPO 相）。

(3) 醋酸丁酯（BA）/H₂O（50~60℃）反萃

取出富含 EOPO 的上相 305ml，加入 195ml 水、150ml 醋酸丁酯（BA）和少量的无机盐（Na₂SO₄，浓度为 0.05M）。充分混匀，在 50~60℃下静置分相 1~3 小时，此时，上相富含 BA、EOPO 和黄酮类物质，而下相主要是含 Na₂SO₄ 的水溶液，弃去下相。

(4) 醋酸丁酯（BA）/H₂O（1~5℃）反萃

取出上相（BA 相）250ml，加入水 300ml，充分混匀，在 1~5℃下静置分相 12 小时，将上、下相分开，含大量黄酮类物质的 BA 相待进一步处理，而下相（H₂O+EOPO）得以回收使用。

式，黄酮类物质浸出率比常规的煎煮方式更高。②黄酮类物质在 EOPO/硫酸铵双水相系统中分配的极大不对称性。表 1 给出了黄芩甙（黄酮类物质的主要成分之一）在 EOPO4000/硫酸铵双水相系统中的分配数据。黄芩甙是强憎水性物质，根据相似相溶原则，黄芩甙对 EOPO 具有某种亲和性，使黄芩甙能较易溶解在富含 EOPO 的上相中。而一些杂质分配在下相，黄芩甙分配系数一般大于 18，黄芩甙的萃取率在 86.70~96.94%之间。③采用有机溶剂变温反萃技术，有效地解决了双水相萃取技术中目的产物与聚合物分离的问题。既提纯了黄酮类物质，又使聚合物 EOPO 得以回收利用。

表 1 黄芩甙在 EOPO4000/硫酸铵双水相系统中的分配行为

序号	总组成 % wt		相比	分配系数	萃取率 %
	EOPO4000	(NH ₄) ₂ SO ₄	(R)	(K)	(Y)
1	10	8	0.362	18.0	86.70
2	10	10	0.324	43.2	93.33
3	10	12	0.288	75.2	95.59
4	10	14	0.260	95.7	96.14
5	10	16	0.268	118.2	96.94

表中：

相比： $R=V_t/V_b$

分配系数： $K=C_t/C_b$

萃取率： $Y=V_t C_t / (V_t C_t + V_b C_b)$

式中： V_t, V_b —上相,下相的体积;

C_t, C_b —黄芩甙在上,下相中的浓度;

因此，经上述固液浸取、EOPO/硫酸铵双水相系统萃取、有机溶剂变温反萃等过程的处理，使黄酮类物质得以浓缩和提纯，最终得到黄酮类物质的成品。